

51

Int. Cl.:

G 01 n, 15/00

AH

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES



PATENTAMT

52

Deutsche Kl.:

42 I, 13/04

Bezeichnung:

10

11

21

22

43

Offenlegungsschrift 2201894

Aktenzeichen: P 22 01 894.6

Anmeldetag: 15. Januar 1972

Offenlegungstag: 19. Juli 1973

Ausstellungspriorität: —

24

Unionspriorität

25

Datum: —

26

Land: —

31

Aktenzeichen: —

34

Bezeichnung:

Verfahren zum Zählen und Klassieren von in einer Untersuchungsflüssigkeit suspendierten Partikeln

51

Zusatz zu: —

52

Ausscheidung aus: —

71

Anmelder:

Licentia Patent-Verwaltungs-GmbH, 6000 Frankfurt

Vertreter gem. § 16 PatG: —

72

Als Erfinder benannt.

Thom, Reinhard, Dr. med., 1000 Berlin;
Schulz, Jürgen, Dr.-Ing., 7900 Ulm

BEST AVAILABLE COPY

44010001

Ulm (Donau), 14. Januar 1972
PT-UL/Kö/sa
UL 71/201

**"Verfahren zum Zählen und Klassieren von in
einer Untersuchungsflüssigkeit suspendierten
Partikeln"**

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Zählen und Klassieren von in einer Untersuchungsflüssigkeit suspendierten Partikeln mit Hilfe von zwei Gefäßen zur Aufnahme eines Elektrolyten, welche durch eine kleine Öffnung (Meßöffnung) miteinander in Verbindung stehen, mit zwei in den beiden Gefäßen angeordneten, in die Elektrolytflüssigkeit eintauchenden Elektroden unterschiedlichen Potentials, die an einen elektrischen Meßkreis angeschlossen sind, mit einer Einrichtung zur Erzeugung einer Druckdifferenz zwischen den beiden Gefäßen, wobei der Elektrolyt in dem Gefäß größeren Drucks partikelfrei ist, und mit einer Vorrichtung zur Zufuhr der Probensuspension mit einer Austrittsöffnung (Düse), die zur Erzielung einer hydrodynamischen Fokussierung des Suspensionsstromes in das Zentrum des durch die Meßöffnung fließenden Elektrolytstroms strom-

BEST AVAILABLE COPY

aufwärts und coaxial zur Meßöffnung angeordnet ist, insbesondere mit Hilfe einer solchen Vorrichtung nach Patent (DAS 1 806 512), bei der die Düse in derartig geringem Abstand vor der Meßöffnung angeordnet ist, daß beim Hindurchleiten des partikelfreien Elektrolyten durch die Meßöffnung Probensuspension aus der Düse angesaugt wird.

Der eigentliche - d. h. die spezielle Art der Partikelzuführung nicht mit umfassende - Grundgedanke zu einem derartigen Meßverfahren ist aus der US-Patentschrift 2 656 508 bekannt. Die Untersuchungsflüssigkeit ist dabei, da sie an einen elektrischen Meßkreis angeschlossen ist, elektrolytisch. Bei der in der genannten US-Patentschrift beschriebenen Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens strömt der partikelhaltige Elektrolyt durch eine Meßöffnung, wobei die sich beim Durchtritt eines Partikels durch die Meßöffnung sich ergebende Stromänderung ihrer Amplitude nach für die Volumenbestimmung des Partikels auswerten läßt.

Es hat sich nun gezeigt, daß diese Meßanordnung keine ausreichend exakten Meßergebnisse liefert. Die Verfälschungen in den Meßergebnissen resultieren vor allem aus der Tat-

sache, daß die in Wandnähe der Meßöffnung passierenden Partikel andere Meßergebnisse liefern, als wenn diese im Zentrum der Meßöffnung durch diese hindurchgewandert wären. Es sind daher Untersuchungen angestellt worden, wie diese Fehler vermindert werden können. Entsprechende Lösungen finden sich in einem Aufsatz, der in dem "Journal of Colloid and Interface Science", 26 (1968), Seiten 175 bis 182 beschrieben sind. Weitere Verbesserungen ergeben sich bei Verwendung einer Anordnung, wie sie in der DAS 1 806 512 beschrieben ist.

Mit diesen bekannten Meßvorrichtungen sind im wesentlichen jedoch nur Partikel verschiedener Volumina voneinander zu unterscheiden. Es stellt sich jedoch häufig auch die Aufgabe, die Partikel nach ihrem Durchmesser meßtechnisch voneinander zu trennen. Bei gleichen Volumina, d. h. unterschiedlicher Form der Partikel, sind die bekannten Meßanordnungen jedoch dazu nicht in der Lage. Ein nach dem vorgenannten, die spezielle Art der Partikelzuführung mit umfassendes Meßverfahren anzugeben, das in der Lage ist, die genannten Partikel voneinander zu unterscheiden, ist die Aufgabe, die der vorliegenden Erfindung zugrunde liegt.

Diese Aufgabe wird gemäß der Erfindung dadurch gelöst,

daß als Meßöffnung eine solche mit einer gegenüber den Längenabmessungen der zu untersuchenden Partikel kurzen Öffnungslänge verwendet wird, und daß zur Klassierung der Partikel die zeitlichen Längen der sich beim Hindurchtreten der Partikel durch die Meßöffnung im elektrischen Meßkreis ergebenden Stromänderungen registriert und ausgewertet werden. Stattet man die Meßöffnung bei gegebenem Durchmesser der zu untersuchenden Partikel und gegebener Viskosität der diese umgebenden Flüssigkeit zusätzlich mit solch einem geringen Durchmesser aus, daß die Partikel entsprechend ihrer inneren Viskosität beim Durchtreten durch die Meßöffnung plastisch derart verformt werden, daß sich unterschiedliche zeitliche Längen der zu registrierenden Stromänderungen ergeben, so ist es mit Hilfe des erfindungsgemäßen Verfahrens zusätzlich möglich, volumengleiche aber unterschiedlich viskose Partikel voneinander zu unterscheiden.

Diese Aufgabe stellt sich aus dem Hauptanwendungsgebiet der bekannten Meßvorrichtung, nämlich dem der Blutzellenmessung. Will man Erythrozyten und Leukozyten nach dem genannten, als Coulter-Verfahren bezeichneten Verfahren, meßtechnisch voneinander unterscheiden, so gelingt dies nur, wenn nach Anreicherung der Leukozyten die Konzentrations-

unterschiede - im Vollblut kommt auf etwa 700 Erythrozyten ein Leukozyt - erheblich verringert werden. Im unfraktionierten Blut werden in den Volumenbereichen der Leukozyten auch jene Erythrozyten erfaßt, die nicht einzeln die Meßöffnung passieren, da das Volumen eines Leukozyten etwa so groß wie das von zwei bis vier Erythrozyten ist. Die Koinzidenzwahrscheinlichkeit eines gleichzeitigen Durchtrittes zweier oder mehrerer Erythrozyten läßt sich nicht durch Verdünnung beliebig verringern, da die Abstände zwischen den Erythrozyten nicht nur durch die statistische Verteilung bedingt sind. Vielmehr verbleiben in Abhängigkeit von dem verwendeten Suspensionsmedium 1 bis 10 % der Erythrozyten auch bei hochgradiger Verdünnung agglomeriert. (in Form von Geldrollen aneinander gelagert). Die Zählung oder Messung der Leukozyten im Vollblut oder Vollblutverdünnungen ist daher nicht möglich, ohne den Erythrozytenanteil vor der Messung durch präparative Methoden mindestens um zwei Zehnerpotenzen zu reduzieren. Bei präparativen Methoden, die auf einer selektiven Hämolysen der Erythrozyten beruhen, wird die für die Meßwerterfassung erforderliche Isolatoreigenschaft der Leukozytenmembran vermindert oder aufgehoben, während Methoden der Sedimentation quantitative Bestimmungen ausschließen, da das Ausmaß der Leukozyten-Anreicherung nicht hinreichend genau bestimmbar ist. Mit Hilfe der Weiterbildung des erfindungsgemäßen Verfahrens

ist es jedoch möglich, die erwähnten Messungen im Vollblut oder Vollblutverdünnungen durchzuführen.

Für das Unterscheiden agglomerierter Erythrozyten von den Leukozyten bedient man sich dabei eines Phänomens, das in der Natur ^{der} zu untersuchenden Zellen liegt. Erythrozyten und Leukozyten unterscheiden sich nicht nur im Hinblick auf ihr Volumen, sondern auch durch ihre Plastizität, indem die kernlosen Säugetier-Erythrozyten im Gegensatz zu den Leukozyten infolge ihrer geringen inneren Viskosität extrem leicht verformbar sind. Beim Durchströmen der Meßöffnung verlieren sie die bekannte Linsenform und werden entsprechend den infolge dort vorliegenden hydrodynamischen Druckverhältnissen bis zu 20μ , etwa dem dreifachen Durchmesser eines Erythrozyten bei Ruhelage, langgestreckt. Diese Verformung ist abhängig vom Durchmesser der Meßöffnung, den dynamischen Druckverhältnissen und der Viskosität des umgebenden Mediums. Die Leukozyten behalten aufgrund ihrer Steifigkeit ihre kugelige Form mit einem Durchmesser von $6 - 8,5\mu$. Sie verweilen damit eine sehr viel kürzere Zeit in der Meßöffnung, erzeugen jedoch einen höheren Impuls als die Erythrozyten. Die stark unterschiedliche Länge der Impulse kann jedoch für die Unterscheidung der Partikel ohne Schwierigkeit herangezogen werden.

Die Stromänderungen, die beim Durchtritt der Partikel durch die Meßöffnung entstehen, kann man als Impulse bezeichnen. Die Länge dieser Impulse wird gemäß der vorliegenden Erfindung bewertet. Hierzu werden nachfolgend einige Bedingungen erläutert. Man kann die Impulsdauer z. B. als Dauer des Impulses bei halber Maximalamplitude oder bei 10 % der Maximalamplitude definieren. Da die Impulse nicht rechteckig sind, sondern endliche Anstiegs- und Abfallszeiten besitzen, die Bewertung wird zweckmäßigerweise in Abhängigkeit von der Impulsamplitude durchgeführt. In Weiterbildung der Erfindung wird demnach zusätzlich die Impulsamplitude erfaßt und ausgewertet. Würde man nämlich eine feste Amplitudenschwelle vorsehen und die Dauer dieser Schwellüberschreitung als Impulsdauer bestimmen, so würde ein kleiner langer Impuls eine kürzere Schwellüberschreitung bewirken als ein großer kurzer Impuls. Man kann andererseits diese Schwelle auch nicht in der Abhängigkeit von der jeweils eintreffenden Maximalamplitude einstellen, da die Maximalamplitude erst bei Erreichen des Impulsmaximums bekannt ist und die Schwelle zur Bestimmung der Impulsdauer schon zum Zeitpunkt der Vorderflanke des Impulses festgelegt sein muß. Es ist daher zweckmäßig, zur Unterscheidung der Impulsdauer eine feste Schwelle so vorzusehen, daß auch die kleinsten noch interessierenden Impulse diese Schwelle überschreiten. Es wird dann die

Dauer dieser Schwellüberschreitung bestimmt und mit der ermittelten Maximalamplitude ins Verhältnis gesetzt.

Überschreitet das Verhältnis von Dauer der Schwellüberschreitung zur Maximalamplitude einen vorgegebenen Wert, so handelt es sich um ein langes Partikel bzw. um zwei oder mehr aneinanderhängende Partikel. Unterschreitet dieses Verhältnis den vorgegebenen Wert, so handelt es sich um ein kugeliges Partikel. Eine derartige Unterscheidung genügt beim Hauptanwendungsgebiet dieses Verfahrens, nämlich der Blutzellmessung. Die Wahrscheinlichkeit, daß

zwei kugelige Partikel, d. h. Leukozyten aneinanderhängend die Meßöffnung durchlaufen, ist äußerst gering, wegen der geringen Konzentration der Leukozyten im Verhältnis zu der der Erythrozyten. Der entstehende Fehler ist so gering, daß er nicht in Betracht gezogen werden muß.

Eine andere Möglichkeit, die Dauer der Impulse zu erfassen, ist - wie bereits erwähnt - die Impulse bei einer bestimmten Höhe, z. B. der Halbwertsbreite abzutasten und die zeitliche Länge der Überschreitung dieser Halbwertsbreite zu messen. Eine andere Möglichkeit bietet sich auch darin, die Zeit zwischen dem Erreichen des Amplitudenmaximums und einem vorgegebenen Punkt auf der abfallen-

den Flanke, z. B. bei 50 % der Maximalamplitude zu messen. In diesem Falle kann man die Amplitudenschwelle beim Erreichen des Impulsmaximums auf einen bestimmten prozentualen Anteil der Maximumamplitude einstellen und die Zeit zwischen dem Erreichen des Amplitudenmaximums und dem Unterschreiten dieser amplitudenabhängigen Schwelle durch die Rückflanke des Impulses bewerten. Dieses Verfahren zeigt sehr signifikante Unterschiede bei den einzelnen Partikelklassen bei sehr geringer Streuung.

Da bei dem erfindungsgemäßen Verfahren mehr die Form, nicht aber das exakte Volumen der Partikel bestimmt wird, kann man in vorteilhafter Weiterbildung der Erfindung in einer zweiten, der ersten nachgeschalteten Meßöffnung, die eine solche Geometrie aufweist, daß in bekannter Weise volumenproportionale Stromänderungsamplituden beim Durchtritt der Partikel durch sie zustandekommen, in üblicher Weise eine Volumenbestimmung der Partikel durchführen. Eine Anordnung zur Durchführung eines solchen Verfahrens besteht demnach aus zwei hintereinander geschalteten Meßöffnungen und zwei getrennten Stromkreisen zur Erfassung der unterschiedlichen elektrischen Meßergebnisse. Ein ähnliches Verfahren, bei dem jedoch die Form- oder Viskositätsbestimmung der Partikel in der ersten Meßöffnung über eine Amplitudenmessung durchgeführt

wird, ist bereits vorgeschlagen worden (Patentanmeldung P 21 45 531.2). Jenes Verfahren nutzt die bereits beschriebene Tatsache aus, daß durch den geringeren Querschnitt der Partikel beim Durchtritt durch die Meßöffnung trotz gleichen Volumens unterschiedliche Impulsamplituden registriert werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren sei anhand der Zeichnungen, in denen auch eine Anordnung zur Durchführung des Verfahrens dargestellt ist, näher erläutert.

Die Figur 1 zeigt das erfindungsgemäße Impulsbewertungsverfahren.

Die Impulsverläufe nach Figur 1 a entstehen als Stromänderungen beim Annähern eines Partikels an die Meßöffnung und dem Durchtritt des Partikels durch diese. Die schleppend ansteigenden und abfallenden Flanken dieser Impulse kommen dadurch zustande, daß die Partikel vor dem Eintritt in die Meßöffnung schon vom elektrischen Meßkreis erfaßt und registriert werden. Der mit 1 bezeichnete, gestrichelt eingezeichnete Impulsverlauf sei derjenige, den ein großes langgestrecktes Partikel hervorruft. Der mit 2 bezeichnete strichpunktiert eingezeichnete Impulsverlauf sei derjenige eines kleinen langgestreckten Partikels. Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren wird - wie bereits erwähnt - mit einer

verhältnismäßig kurzen Meßöffnung gearbeitet, so daß der Impulsverlauf in der Umgebung des Maximums in einem gewissen Bereich horizontal verläuft. Der mit 3 bezeichnete durchgezogene Impulsverlauf ist dann derjenige eines großen kugelförmigen Partikels, und der mit 4 bezeichnete strichpunktiert eingezeichnete Impulsverlauf derjenige eines kleinen kugelförmigen Partikels. Die kugelförmigen Partikel sind im Verhältnis zur Meßöffnungslänge kurz, weshalb die Impulse in der Umgebung des Maximums keinen flachen Verlauf aufweisen wie die Impulse gemäß 1 und 2. Es werden nun erfindungsgemäß die Impulslängen bestimmt, beim dargestellten Ausführungsbeispiel jene sich durch Überschreiten eines vorgegebenen Schwellwerts, in der Figur 1 a mit der Linie 5 dargestellt, ergebenden. Die zugehörigen Impulslängen, die z. B. durch digitale Zählung von Impulsen, die in eine Torschaltung einlaufen, die beim Über- und wieder Unterschreiten der Schwelle geöffnet bzw. geschlossen wird, gemessen werden können, sind in der Figur 1 b dargestellt. Die Strichausführung (strichpunktiert gestrichelt usw.) entspricht derjenigen von Figur 1 a.

Während die Figur 1 a noch gewisse Rückschlüsse auf die Art des jeweils gemessenen Partikels zuläßt, ist dies beim Ergebnis nach Figur 1 b in vielen Fällen nicht ohne weitere Hilfsmittel möglich. Wie aus Figur 1 a und 1 b

ersichtlich, können nämlich die Impulslängen von kleinen langen Partikeln in der gleichen Größenordnung liegen wie die Impulslängen von großen kugeligen Partikeln. Ohne zusätzliche Hilfen wäre dieses Verfahren also nur geeignet, etwa volumengleiche Partikel ihrer unterschiedlichen Form nach zu trennen. Will man jedoch auch noch eine Volumentrennung durchführen, so bewertet man zweckmäßigerweise das Verhältnis von Impulsdauer zu Impulsmaximum mit. Entsprechende relative Werte sind in der Figur 1 b neben den zugehörigen Impulsverläufen dargestellt. So zeigt sich eindeutig, daß mit Hilfe dieses Verfahrens die etwa gleiche Impulslängen liefernden Partikel gemäß 2 und 3 aufgrund ihres stark unterschiedlichen Verhältnisses von Impulsdauer zu Impulsmaximum auseinandergehalten werden können.

Die Figur 2 zeigt eine Anordnung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens. An ihr sei das Verfahren weiter erläutert. Aus einem Gefäßraum 6 fließt Elektrolytflüssigkeit durch eine Meßöffnung 7 in ein Gefäß 8. In geringem Abstand vor der Meßöffnung 7 ist die Düse 9 einer Zuführungsvorrichtung angeordnet, mittels der die zu untersuchenden Partikel der Meßöffnung zugeführt werden. Beim Einströmen des Elektrolyten 10 in die Meßöffnung 7 saugt diese nämlich infolge eines an der Düse 9 entstehenden

Unterdrucks die Probensuspension 11 aus der Düse 9 heraus und transportiert diese im Zentrum des in die Meßöffnung fließenden Stromes durch diese hindurch. In den beiden Gefäßen 6 und 8 sind Elektroden 12 und 13 angeordnet, die in den Elektrolyten eintauchen und an eine elektronische Auswerteeinrichtung 14 angeschlossen sind, mit der die Längen der Impulse, die beim Durchtritt der Partikel durch die Meßöffnung 7 erzeugt werden, registriert werden. Durch die Größendimensionen in der Figur 2 ist angedeutet, daß die Länge der Meßöffnung 7 gegenüber den Abmessungen der durch sie hindurchtretenden Partikel klein ist. Für die Analyse von Blutkörperchen bei einer Kochsalzlösung als Elektrolyt gibt man ihr zylindrische Form mit einer Länge von etwa 15μ und einem Durchmesser von etwa 40μ . Man kann sie aber auch konisch ausführen mit einer Länge von etwa 20μ , einem Durchmesser der Eintrittsöffnung von etwa 50μ und einem Durchmesser der Austrittsöffnung von etwa 43μ .

Bei der in der US-Patentschrift 2 656 508 beschriebenen Anordnung sind die Partikel unmittelbar dem Elektrolyten beigemischt, eine Zuführungsvorrichtung - wie in der Figur 2 dieser Anmeldung dargestellt - ist bei der Anordnung in der genannten Patentschrift nicht vorhanden. Es kann daher vorkommen, daß bei jener Anordnung die Partikel in Wandnähe die Meßöffnung passieren, wodurch sich, wie bereits erwähnt, Impulsverfälschungen ergeben. Da diese Abweichungen in der Größenordnung der nach dem erfindungsgemäßen Verfahren festgestellten Unterschiede in der Partikelbewertung liegen, ist eine nach der genannten US-Patentschrift arbeitende Vorrichtung ohne die beim Gegenstand

der vorliegenden Patentanmeldung vorgesehenen Zuführungseinrichtung mit hydrodynamischer Fokussierung des Proben-suspensionsstrahles zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens nicht geeignet.

Wenn man zusätzlich die exakten Volumina der Partikel bestimmen will, schaltet man der ersten Meßöffnung 7 zweckmäßigerweise eine zweite Meßöffnung 15 nach, deren Geometrie in bekannter Art so gewählt ist, daß in ihr die Volumenbestimmung nach der Impulshöhe durchführbar ist. Zu diesem Zweck ist eine weitere Elektrode 16 in einem Gefäß 17, in das der Elektrolyt mit den Partikeln fließt, vorgesehen, die an eine Auswerteeinrichtung 18 zusammen mit der Elektrode 13 angeschlossen ist. Eine solche Anordnung hat zugleich den Vorteil, daß die in die zweite Meßöffnung 15 eintretenden Partikel bereits auf das Zentrum dieser Meßöffnung fokussiert sind, wodurch sich in bekannter Art die Meßergebnisse verbessern. Hierzu muß die Anordnung so gewählt sein, daß die zweite Meßöffnung 15 sich in geringem Abstand konzentrisch hinter der ersten Meßöffnung 7 befindet. Wenn zusätzlich dafür Sorge getragen ist, daß aus dem Raum 8 ein den Flüssigkeitsstrom, der ihr aus der Meßöffnung 7 zufließt, umhüllender Flüssigkeitsstrom mit durch die Meßöffnung 15 fließt, dann kann ein Aufspreizen dieses aus der Meßöffnung 7 in die Meßöffnung 15 fließenden, die

Partikel enthaltenden Flüssigkeitsstromes nicht auftreten, so daß die zentrische Zuführung der Partikel zur zweiten Meßöffnung 15 gesichert ist. Für die Analyse von Blutkörperchen hat diese bei einem Durchmesser von etwa 40μ eine Länge von etwa 40μ .

Wenn die Laufzeit der Partikel zwischen den Meßöffnungen 7 und 15 bekannt ist, lassen sich die in den Meßeinrichtungen 14 und 18 registrierten Impulse auf einfache Weise einander zuordnen. Eine weitere Meßeinrichtung 19, der die Ergebnisse der Meßeinrichtungen 14 und 18 zugeführt werden, übernimmt diese zuordnende Funktion. Mit ihrer Hilfe ist eine eindeutige Aussage über Volumen und Form bzw. Verformbarkeit und damit über die interessierenden Eigenschaften eines jeden Partikels möglich.

BEST AVAILABLE COPY

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Verfahren zum Zählen und Klassieren von in einer Untersuchungsflüssigkeit suspendierten Partikeln mit Hilfe von zwei Gefäßen zur Aufnahme eines Elektrolyten, welche durch eine kleine Öffnung (Meßöffnung) miteinander in Verbindung stehen, mit zwei in den beiden Gefäßen angeordneten, in die Elektrolytflüssigkeit eintauchenden Elektroden unterschiedlichen Potentials, die an einen elektrischen Meßkreis angeschlossen ist, mit einer Einrichtung zur Erzeugung einer Druckdifferenz zwischen den beiden Gefäßen, wobei der Elektrolyt in dem Gefäß größeren Drucks partikelfrei ist, und mit einer Vorrichtung zur Zufuhr der Probensuspension mit einer Austrittsöffnung (Düse), die zur Erzielung einer hydrodynamischen Fokussierung des Suspensionsstromes in das Zentrum des durch die Meßöffnung fließenden Elektrolytstroms stromaufwärts und coaxial zur Meßöffnung angeordnet ist, insbesondere mit Hilfe einer solchen Vorrichtung nach Patent (DAS 1 806 512), bei der die Düse in derartig geringem Abstand vor der Meßöffnung angeordnet ist, daß beim Hindurchleiten des partikelfreien Elektrolyten durch die Meßöffnung Probensuspension aus der Düse angesaugt wird, dadurch gekennzeichnet, daß als Meßöffnung eine solche mit einer gegenüber den Längenabmessungen der zu untersuchenden

Partikel kurzen Öffnungslänge verwendet wird, und daß zur Klassierung der Partikel die zeitlichen Längen der sich beim Hindurchtreten der Partikel durch die Meßöffnung im elektrischen Meßkreis ergebenden Stromänderungen registriert und ausgewertet werden.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich die Amplituden der Stromänderungen registriert und für die Auswertung herangezogen werden.

3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß Länge und Amplitude der sich beim Durchtritt eines Partikels durch die Meßöffnung ergebenden Stromänderung ins Verhältnis gesetzt werden und dieses Verhältnis für die Klassierung volumenunterschiedlicher aber im wesentlichen gleichlanger Partikel ausgewertet wird.

4. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der zeitliche Abstand zwischen dem Erreichen des Stromänderungsmaximums (Impulsmaximums) und dem Unterschreiten einer vom Maximum in vorgegebenem Verhältnis abhängigen Schwelle ausgewertet wird.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2 zur Unterscheidung volumengleicher aber unterschiedlich viskoser

Partikel, dadurch gekennzeichnet, daß mit einer Meßöffnung solch geringen Durchmessers gearbeitet wird, daß bei gegebenem Durchmesser der zu untersuchenden Partikel und gegebener Viskosität der diese umgebenden Flüssigkeit die Partikel entsprechend ihrer inneren Viskosität beim Durchtreten durch die Meßöffnung plastisch derart verformt werden, daß sich unterschiedliche zeitliche Längen der zu registrierenden Stromänderungen ergeben.

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß nur solche Stromänderungen ausgewertet werden, die eine vorgegebene Mindestamplitude überschreiten.

7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß in einer zweiten, der ersten nachgeschalteten Meßöffnung, die eine solche Geometrie aufweist, daß in bekannter Weise volumenproportionale Stromänderungsamplituden beim Durchtritt der Teilchen durch sie zustandekommen, in üblicher Weise eine Volumenbestimmung der Teilchen durchgeführt wird.

8. Meßöffnung zur Durchführung von Blutuntersuchungen mit Hilfe des Verfahrens nach Anspruch 5 unter Verwendung einer Kochsalzlösung als Elektrolytflüssigkeit, dadurch gekennzeichnet, daß sie zylindrische Form aufweist, etwa 15 μ lang ist und einen Durchmesser von ^{etwa} 40 μ aufweist.

9. Meßöffnung zur Durchführung von Blutuntersuchungen mit Hilfe des Verfahrens nach Anspruch 5 unter Verwendung einer Kochsalzlösung als Elektrolytflüssigkeit, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine konische Form aufweist, etwa 20 μ lang ist, bei einem Durchmesser der Eintrittsöffnung von etwa 50 μ und einem Durchmesser der Austrittsöffnung von ^{etwa} 43 μ .

BEST AVAILABLE COPY

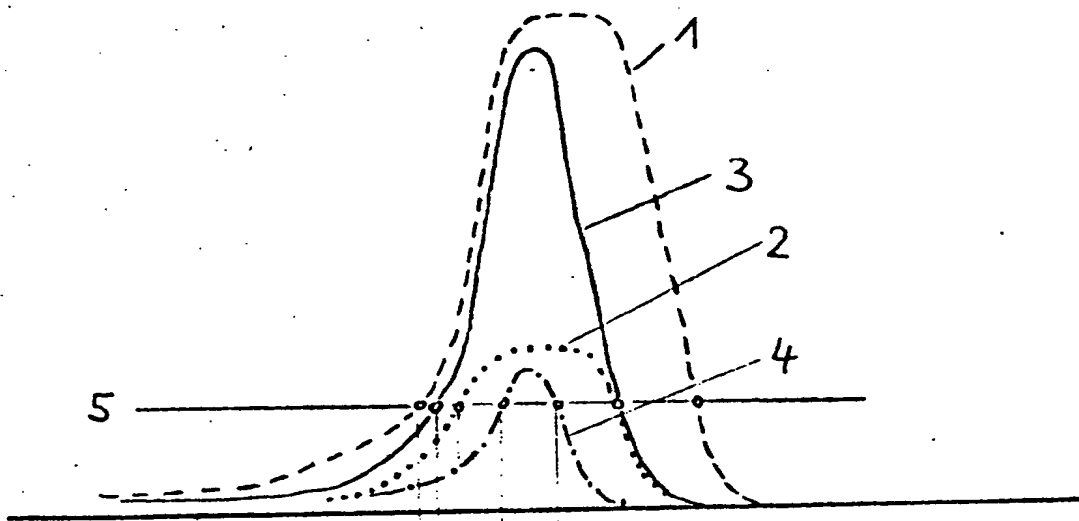


Fig. 1a

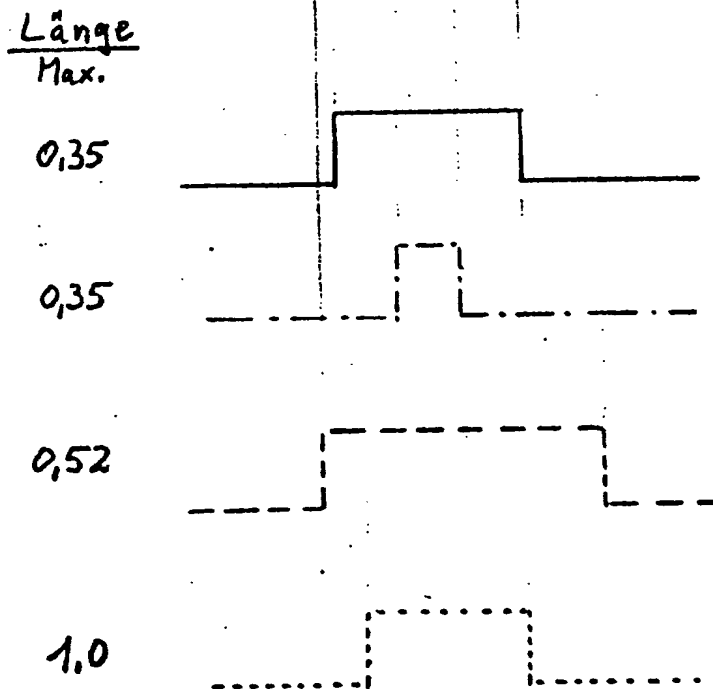


Fig. 1b

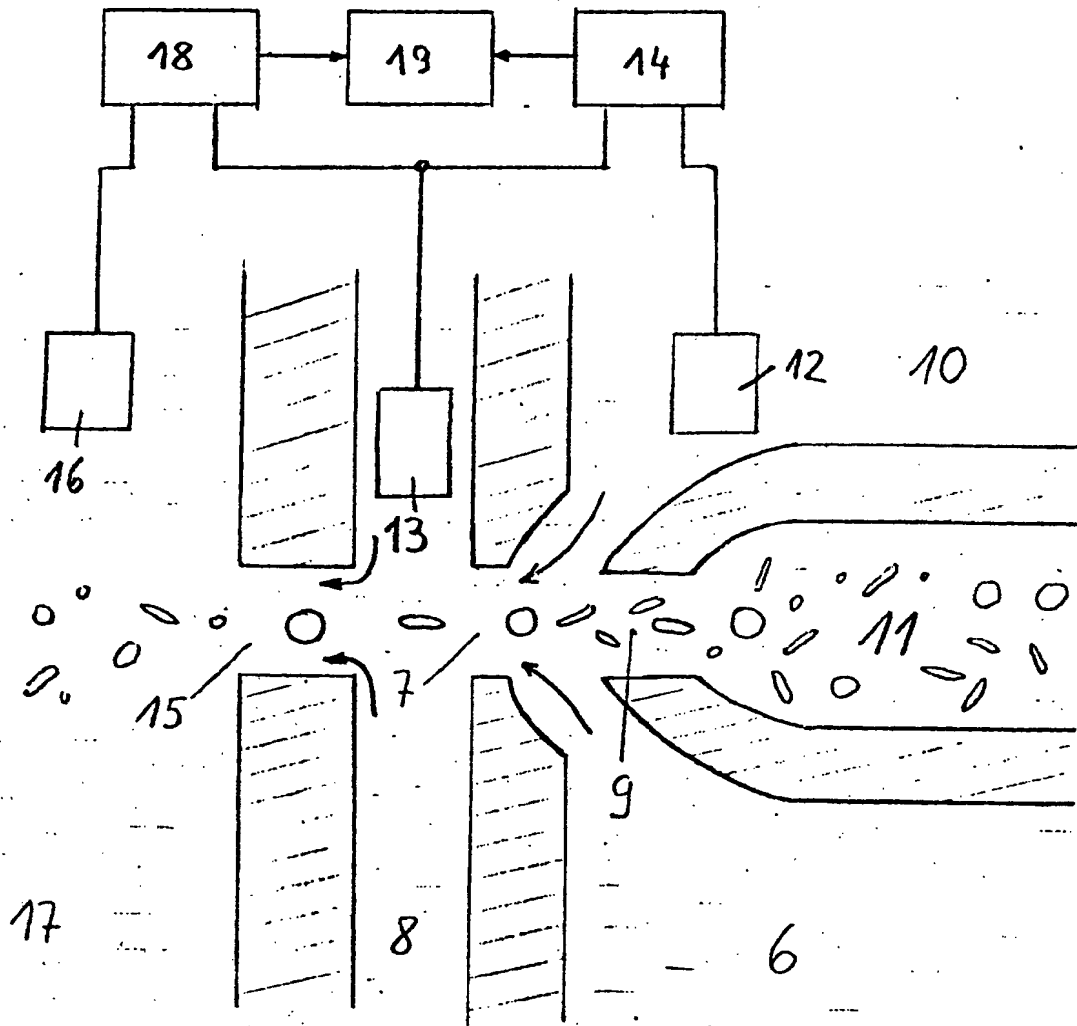


Fig. 2